蝴蝶兰新型杂交品种挥发性成分分析

童妍[1]，张燕萍[1]，胡美娟[1]，曹映辉[1]，章杨婷[1]，仝恩慧[1]，王文君[1]，赵凯[2]，彭东辉[1]，周育真[1*]

（1. 福建农林大学 园林学院，兰科植物保护与利用国家林业和草原局重点实验室，福州 350002；2. 福建师范大学 生命科学学院，福州 350117）

摘要：为研究不同蝴蝶兰品种关键致香成分，该文采用顶空固相微萃取（HS-SPME）与气质联用法（GC-MS）结合对 8 个新型杂交品种盛花期花朵进行花香成分检测，并以此为基础进行主成分、聚类及香气品质分析。结果表明：（1）8 个品种中共鉴定出 96 种物质，分为萜烯类、醛类、酯类、醇类、酮类、醚类、酚类和芳香族化合物，其中萜烯类物质为主要挥发性物质。（2）主成分分析显示各品种被划分在 3 个象限中。F2 中挥发性成分种类和数量均最多，萜烯类物质主要是桉叶油醇、α-香柑油烯；F1、F4、F5 和 F8 为一组，挥发性成分种类最少，萜烯类物质主要是芳樟醇；F3、F6 和 F7 为一组，挥发性成分种类较多，萜烯类物质主要是α-香柑油烯。（3）聚类分析结果与主成分分析一致，8 个品种聚为 3 类。F1、F4、F5 和 F8 关系较近，为花香气味类型；F3、F6 和 F7 的关系更近，为木质型花香品质；F2 与其他 7 个品种显示有较远的遗传距离，挥发性物质贡献率相对平均，花香成分复杂，兼具木香型、薄荷香型和果香型等。该研究表明花香物质可以作为潜在特征标记物来区分香味特征各异的品种群体，为蝴蝶兰种质资源梳理、特定芳香品种选育及产品加工生产等进一步开发利用研究提供理论依据。

关键词：蝴蝶兰，挥发性成分，GC-MS，聚类分析，遗传距离

中图分类号：Q946　　　　**文献标识码：**A

Detection of volatile components in new hybrid varieties of *Phalaenopsis*

TONG Yan[1], ZHANG Yanping[1], HU Meijuan[1], CAO Yinghui[1], ZHANG Yangting[1], TONG Enhui[1], WANG Wenjun[1], ZHAO Kai[2], PENG Donghui[1], ZHOU Yuzhen[1*]

(1. *College of Landscape Architecture*, *Fujian Agricultural and Forestry University*, *Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration for Orchid Protection and Utilization*, Fuzhou 350002; 2. *College of Life Sciences*, *Fujian Normal University*, Fuzhou 350117）

Abstract: *Phalaenopsis* was the genus with the highest ornamental value and the best commercialization among orchids. *Phalaenopsis* with fragrance were rarely distributed in the market due to selection constraints, such as affinity, ploidy and breeding age. Researching on floral fragrance and transferring aroma traits into commercial *Phalaenopsis* are of great significance to the breeding of *Phalaenopsis* floral fragrance. In order to investigate the key aroma-causing components among different varieties of *Phalaenopsis*, the floral fragrance components of the eight new hybrid varieties in full blooming period were examined by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. The principal components, clustering and aroma quality analysis were performed based on the identification of

---

基金项目：国家重点研发计划项目（2019YFD1001000302）[Supported by National Key R & D Program Project（2019YFD1001000302）]。

第一作者：童妍(1998-)，硕士研究生，研究方向为园林植物与应用，（E-mail）2474842013@qq.com。

**通信作者：*周育真，博士，讲师，研究方向为园林植物遗传育种与应用，（E-mail）zhouyuzhencn@163.com。

floral substance components. The results were as follows: (1) 96 substances were detected in eight varieties of *Phalaenopsis*, mainly divided into eight categories of terpenes, aldehydes, esters, alcohols, ketones, ethers, phenols and aromatic compounds, among which terpenes were dominant in quantity and content and were the main volatile substances of *Phalaenopsis*. (2) Principal component analysis showed that eight varieties were divided into three quadrants. F2 had the most volatile components and the most quantity, terpenes were mainly 1,8-cineole, α-bergamotene, linalool and (+)-calarene; F1, F4, F5 and F8 were divided into a group without ketones, ethers or phenols, and they had the least volatile components and terpenes were mainly linalool; F3, F6 and F7 were divided into a group with more volatile components and the terpenes were mainly α-bergamotene. (3) The results of cluster analysis were consistent with the principal component analysis, and the eight varieties were clustered into three categories. F1, F4, F5 and F8 were more closely related to each other as floral odor types; F3, F6 and F7 were more closely related to each other as woody floral quality; F2 showed a long genetic distance from the other seven varieties, with complex floral components and relatively average contribution of volatile substances, and both woody, minty and fruity types. This study shows that floral fragrance substances can be used as potential trait markers to distinguish between groups of varieties with different fragrance characteristics and provide a theoretical basis for further development and utilization research through cross selection to achieve specific floral fragrance *Phalaenopsis* selection and product processing and production.

Key words: *Phalaenopsis*, volatile composition, GC-MS, cluster analysis, genetic distance

花香化合物是植物花朵释放的次生代谢物，在植物中表现出明显的多样性，一种植物中存在十几种至上百种挥发物质。普遍认为花香物质有引诱传粉者、提供食物源信号、抵御昆虫和病原体侵害等功能（Dobson, 1994；Shulaev et al., 1997；孔莹等，2012）。花香作为“花卉的灵魂”，现已有 2000 多种花香物质从 90 个属 991 种植物类群中被鉴定出来（Jette, 2006），国内外已开展大量芳香植物育种工作，如育成四季开花、芳香浓郁香花月季群（李晋华等，2018）；培育具有香味的常绿杜鹃品种（Ashworth et al., 2003）；培育出 30 余个适宜北方陆露地栽培的梅花香花品种（陈俊愉等，1995；赵靓，2019）；山茶也相继培育芳香品种（范正琪等，2014）。随着蝴蝶兰鲜切花和盆栽蝴蝶兰市场的发展，以及人们对芳香植物的喜爱，香型蝴蝶兰市场的需求扩大，培育不同香型的蝴蝶兰品种将成为未来重要的育种方向。

肖文芳等（2020，2021）鉴定得到大叶蝴蝶兰（*Phalaenopsis violacea*）中的单萜类和倍半萜类物质居多，并发现特征香气物质橄香素；隔年，以 4 个蝴蝶兰品种花朵挥发性成分进一步验证单萜类化合物是蝴蝶兰花朵的主要致香成分。在对兰花花香成分差异比对时，发现蝴蝶兰中醇类物质在数量和相对含量上占优势（彭红明，2009；杨慧君，2011）。浓香型原生种荧光蝴蝶兰（*P. bellina*）和大叶蝴蝶兰花香由芳樟醇和香叶醇及其衍生物等单萜类化合物决定（Hsiao et al., 2008, 2006）。杨淑珍检测 2 个品种挥发性成分时推测 L-沉香醇为香气物质的主要成分（杨淑珍和范燕萍，2008）。原生种西蕾丽蝴蝶兰（*P. schilleriana*）中挥发性成分主要为萜烯类和酯类物质，包含乙酸橙花酯、橙花醇、香茅醇及乙酸香茅酯（Awano et al., 1997）。

现代蝴蝶兰种质资源丰富，从常绿到落叶、大花型到小花型均有，传统杂交育种受到遗传背景、基因组倍性、杂交亲和性等等的制约，香花育种进程缓慢，市场中鲜有香花品种流通。不同物种间或者同一物种不同品种间花香组分仍有差异，且目前对不同蝴蝶兰品种挥发性成分的研究相对较少，主要针对少数的原生种及商业品种，检测出的特征香气相对单一，未能通过挥发性物质对品种类群进行分类。本研究采用顶空固相微萃取与气相色谱-质谱联

用的芳香植物香气收集分析方法，系统的对 8 个蝴蝶兰栽培香花品种盛花期时的香气成分进行全面分析。深入了解不同蝴蝶兰品种花朵的香味组分及其含量，并以花香成分为基础进行聚类分析。旨在区分香味特征各异的品种群体，为芳香蝴蝶兰种质资源梳理、特定香味品种选育及产品加工生产等进一步开发利用研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

供试材料包括 F1（*Phalaenopsis* ‘Nobby’s Doctor’×*Phalaenopsis* ‘Yaphou Yellow Story’）、F2（*Phalaenopsis* ‘Samela Blue’×*Phalaenopsis speciosa*）、F3（*Phalaenopsis speciosa* ‘Jiaho Spot SM/TOGA 82P’）、F4（*Phalaenopsis* ‘Super Zebra’）、F5（GS 032）、F6（*Phalaenopsis speciosa* ‘Purple Pixie’）、F7（*Phalaenopsis speciosa*×sib）、F8（*Phalaenopsis* ‘Yaphon Christmas Red Spots’）8 个香花蝴蝶兰杂交品种，均取自于福建农林大学森林兰苑温室大棚，期间正常水肥管理。各挑选三株盛花期且长势一致的盆栽苗，于测试前 1 d 搬至样品前处理室，以适应环境条件。于 12 月 22 日至 12 月 30 日上午 10：00 至 14：00 期间摘取盛开 7 d 的鲜花进行测定，每个样品取 3 个生物学重复样本。

手动 SPME 进样器和 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头（美国 Supelco 公司）；Agilent 7890B GC-5977B MS 和 Agilent 的 HP-INNOWAX（60 m×0. 25 mm×0. 25 μm）色谱柱。

1.2 试验方法

1.2.1 HS-SPME 萃取

取样前先将固相微萃取头在气相色谱进样口老化 30 min，老化温度 250 ℃。摘取盛花时期蝴蝶兰花朵样品，整朵撕开，置于垫片密封的 25 mL 萃取瓶中，再加入 1 μL 含 0.1%癸酸乙酯的甲醇（色谱级）溶液为内标，将老化好的萃取头插入样品瓶顶空部分，萃取纤维位于样品上方 1 cm 处，固定手柄，顶空瓶置于 35 ℃水浴条件下吸附 30 min。

1.2.2 GC-MS 分析

吸附完成后将固相微萃取头抽回，插入气相色谱-质谱联用仪进样口，于 250 ℃解析 5 min，启动仪器采集数据。色谱条件：采用 HP-INNOWAX 色谱柱，长 60 m，内径 0.25 mm，液膜厚 0.25 μm；载气为高纯度氦气（99.99%），不分流模式进样，隔垫吹扫流速为 3 $mL \cdot min^{-1}$，柱流速为 1 $mL \cdot min^{-1}$。程序升温：进样口温度为 250 ℃，柱温起始温度 45 ℃保持 1 min，先以 5 $℃ \cdot min^{-1}$ 升温至 200 ℃，再以 15 $℃ \cdot min^{-1}$ 升温至 250 ℃。质谱条件：传输线接口温度维持在 250 ℃，离子源温度为 230 ℃，四级杆温度为 150 ℃，电离方式为 EI，电子能量参数 70 eV，发射电流为 200 μA。以扫描方式获得质谱数据，检测质量范围为 20~500 $m \cdot z^{-1}$，溶剂延迟时间为 3 min。

1. 2. 3 数据分析

香味组分经气相色谱分离形成各自的总离子流色谱图，解析各个峰所对应的质谱图。将所得到的质谱数据与计算机谱库 NIST17 标准库检索及资料进行比对，按相似度最高原则结合网站对应物质所列举的相关文献确定样品中的挥发性化学成分。根据离子流峰面积归一化法计算各组分在总挥发物中的相对含量进行定量分析。每个样品分别进行 3 次平行重复试验。利用软件 Excel 2010 整理汇总数据并制作图表，主成分分析、聚类分析及偏最小二乘分析运用软件 Origin Pro 2019b 和 Metabo Analyst 5.0 进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 不同蝴蝶兰品种挥发性成分的组分比较

从 8 个蝴蝶兰品种盛花时期花朵 GC-MS 总离子流色谱图中分析得到萜烯类、醛类、酯类、醇类、酮类、醚类、酚类和芳香族化合物 8 类物质。在不同蝴蝶兰品种中主要挥发性物

质在数量和相对含量具有较大差异。8 个蝴蝶兰种质资源检测鉴定出的物质数量依次为 22、35、26、10、20、31、21 和 31，其总相对含量依次为 91. 45%、88. 65%、98. 14%、90. 94%、67. 48%、98. 55%、97. 03%和 86. 65%，萜烯类数量相对其他组分较高，分别为 14、26、15、5、9、15、9 和 24（表 1）。不同蝴蝶兰的花香组成存有差异，每种植物的挥发性成分与含量都不相同，此次试验中各品种的萜烯类物质种类数量占有最多，且相对含量最高，是蝴蝶兰花朵中的主要挥发性成分。

表 1 8 个蝴蝶兰品种挥发性成分主要类别

Table 1 Types of volatile components of eight varieties of *Phalaenopsis*

组分 Category	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
萜烯类 Terpenes	14	26	15	5	9	15	9	24
醛类 Aldehydes	—	—	—	—	1	—	—	—
酯类 Esters	5	2	4	2	6	4	3	3
醇类 Alcohols	3	3	4	3	4	3	4	3
酮类 Ketones	—	1	2	—	—	4	2	—
醚类 Ethers	—	1	1	—	—	3	2	—
酚类 Phenols	—	1	—	—	—	1	1	—
芳香族化合物 Aromatics	—	1	—	—	—	1	—	1
总相对含量 Total relative content (%)	91.45	88.65	98.14	90.94	67.48	98.55	97.03	86.65

注：—代表未检测出该类物质。下同。

Note：— means that the substance was not detected. The same below.

扣除标品物质后 8 个蝴蝶兰品种中均检测出萜烯类物质、酯类物质和醇类物质，各组分间相对含量差异较大。萜烯类物质作为蝴蝶兰花香的主要类别，在 F3 和 F6 中相对含量较高，为 80. 69%和 79. 96%；其次是在 F2、F7、F8 中，相对含量为 70. 72%、68. 56%、65. 02%；最后是 F1、F4、F5 中，相对含量较低，为 45. 06%、39. 64%、31. 72%。醇类物质在各品种中检测相对含量均较低，在 F2、F5 和 F4 中相对含量为 1. 85%、1. 25%和 1. 2%，F3 中仅占 0. 23%。F1 中的酯类物质检测相对含量最高，为 29. 09%；F5 和 F7 次之，为 18. 61%和 18. 14%，F4 中的相对含量最少，为 4. 26%。F2、F3、F6 和 F7 中均检测出酮类物质和醚类物质，F2、F6 和 F7 中检测有酚类物质，F2、F6 和 F8 中检测有芳香族化合物，F2 和 F6 中除了醛类物质的其他组分均检测出有效物质，F5 中除共有组分外，仅检测有醛类物质（图 1）。

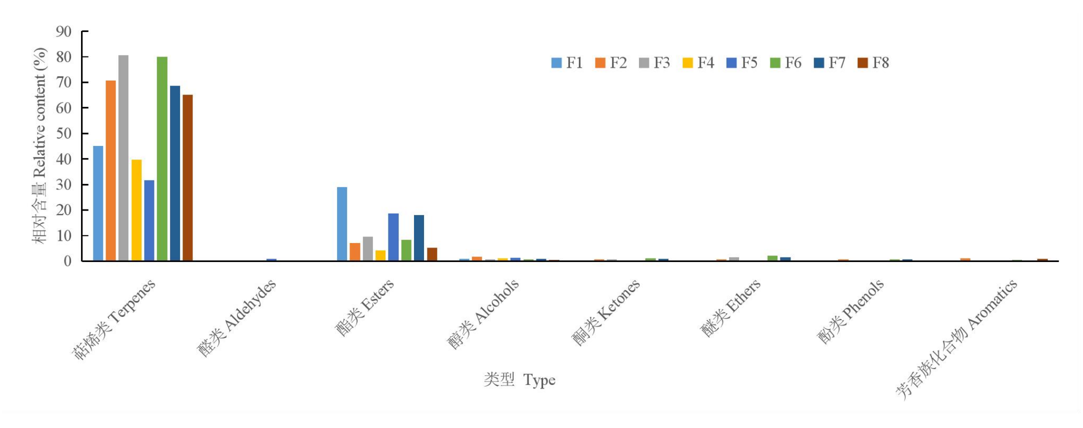


图 1 8 个蝴蝶兰品种各物质组分相对含量

Fig. 1 Relative contents of substance components of eight varieties of *Phalaenopsis*

2. 2 不同蝴蝶兰品种花香成分及其相对含量

8 个蝴蝶兰品种中共检测出 96 种挥发性成分（表 2），虽不可避免在不同品种中测出相同的香气物质，但每个品种都因挥发性成分不同比例的相互组合表现出独特的花香特征。成分乙酸甲酯在各品种中均检测出来，相对含量差异很大。乙酸甲酯物质在 F1、F5 和 F7 中中含量较高，分别为 24.69%、14.07%和 17.05%，推测物质乙酸甲酯为 3 个品种的主要香气成分之一。

萜烯类组分的相对含量在蝴蝶兰中具有重要地位，不同品种的蝴蝶兰所检测出的萜烯类物质仍具有较大差异。6 个品种 F1、F2、F3、F4、F6 和 F7 均检测出倍半萜物质α-香柑油烯，物质释放均为高表达，因此推测它是 6 个品种的主要香气之一。β-红没药烯在 F3 和 F7 中较高表达，含量可达 12. 99%和 11. 4%，推测β-红没药烯是 F3 和 F7 的特征香气成分之一。在 F2、F3、F6 和 F7 中均检测到β-香柑油烯，在 F3 和 F6 中其相对含量均高于 5%，推测此物质也是 4 个品种中的花香主要香气之一。单萜类物质芳樟醇是 F1、F2、F4、F5 和 F8 的共有成分，在 F5 中相对含量最高，为 16. 81%，在 F4 和 F1 中相对含量较高，为 8. 94%和 8. 52%，推测它是这 3 个品种的主要香气之一。桉叶油醇是 F1、F2 和 F8 的共有成分，在 F8 中的相对含量检测最高为 23. 65%，在 F2 中检测次之为 6. 68%，在 F1 中仅检测出 2. 01%的相对含量，其余 5 个品种中未检测到，推测桉叶油醇是 F2 和 F8 的主要香气之一。桧烯在 F8 和 F1 中较高表达，相对含量为 13. 24%和 6. 78%，推测桧烯是构成 F1 和 F8 花香的主成分之一。在 F5 中检测到(3E)-4,8-二甲基壬-1,3,7-三烯，相对含量为 6.4%，判定其为 F5 的香气主成分之一。此外，在 F2 中还检测到特有成分倍半萜物质(+)-白菖油萜，F8 中检测到特有成分单萜类物质(-)-α-蒎烯和(-)-β-蒎烯，在 F5 中检测有单萜物质罗勒烯及别罗勒烯，F7 中检测有反式-β-金合欢烯，F2 中较多杜松烯及其相关产物。

6 个品种蝴蝶兰 F1、F2、F3、F4、F5 和 F8 均检测出微量正己醇，6 个品种 F1、F3、F4、F5、F7 和 F8 中检测出微量叶醇，3-己烯-1-醇在 F2 和 F4 中相对含量为 1. 64%和 0. 13%，可以推测 3-己烯-1-醇是 F2 中醇类组分之一。

表 2 8 个蝴蝶兰品种盛花期主要挥发性成分及其相对含量

Table 2 The main volatile components of eight varieties of *Phalaenopsis* in their full blooming period and their relative contents

	化合物名称 Compound name	匹配度 Matching	相对含量 Relative content（%） F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
单萜类 Monoterpenes										
1	甲基-5-(1-甲基乙基)-双[3.1.0]-2-己烯 Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene,2-methyl-5-(1-methylethyl)-	94	1.68 ± 0.24	—	—	—	—	—	—	—
2	(+)-α-蒎烯 (+)-α-pinene	97	—	0.89 ± 0.18	—	—	—	—	—	—
3	(-)-α-蒎烯 (-)-α-pinene	96	—	—	—	—	—	—	—	4.01 ±0.8
4	(-)-β-蒎烯 (-)-β-pinene	94	—	—	—	—	—	—	—	1.35 ± 0.09

5	β-蒎烯 β-pinene	94	0.75±0.07	0.2±0.04	—	—	—	—	—	—
6	桧烯 Sabinene	96	6.78±1.22	—	—	—	—	—	—	13.24±0.06
7	月桂烯 Myrcene	96	0.2±0.03	0.2±0.07	—	—	0.23±0.01	—	—	1.19±0.09
8	松油烯 Terpinene	84	0.39±0	—	—	—	—	—	—	1.09±0.1
9	(+)-柠檬烯(+)-dipentene	99	—	0.27±0.08	—	—	—	—	—	1.72±0.11
10	桉叶油醇 1,8-cineole	97	2.01±0.49	6.68±2.17	—	—	—	—	—	23.65±0.7
11	γ-松油烯γ-terpinene	97	0.80±0.16	—	—	—	—	—	—	1.48±0.09
12	罗勒烯 Ocimene	97	—	0.25±0.12	—	—	4.06±0.98	—	—	—
13	罗勒烯异构体混合物 Ocimene mixture of isomers	97	—	—	—	—	0.56±0.07	—	—	—
14	萜品油烯 Terpinolene	96	—	—	—	—	—	—	—	0.72±0.11
15	别罗勒烯 Neo-alloocimene, stab	97	—	—	—	—	1.52±0.41	—	—	—
16	芳樟醇 Linalool	97	8.52±2.98	3.63±2.55	—	8.94±0.39	16.81±3.98	—	—	4.96±2.02
17	4-萜烯醇 Terpinen-4-ol	96	—	—	—	—	—	—	—	0.19±0.03
18	(6E)-2,6-二甲基辛-2,6-二烯 (6E)-2,6-dimethylocta-2,6-diene	97	1.67±0.53	—	—	—	1.18±0.21	—	—	—
19	α-松油醇 α-terpineol	90	—	—	—	—	—	—	—	1.03±

										0.09
20	香茅醇 Citronellol	98	2.03±0.77	—	—	1.15±0.14	0.57±0.2	—	—	—
21	(3E)-4,8-二甲基壬-1,3,7-三烯 (3E)-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene	91	—	—	0.1±0.01	—	6.4±1.06	—	—	1.34±0.22
22	(3E,5E)-2,6-二甲基-1,3,5,7-辛四烯 (3E,5E)-2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetracene	96	—	—	—	—	0.39±0.08	—	—	—
倍半萜 Sesquiterpenes										
23	(-)-α-荜澄茄油 (-)-α-cubebene	98	—	0.24±0.01	—	—	—	—	—	0.16±0.05
24	榄香烯 Elemen	98	—	1.07±0.08	—	—	—	—	—	0.20±0.06
25	[1S,2R,6R,7R,8S,(+)]-1,3-二甲基-8-(1-甲基乙基)三环[4.4.0.0(2,7)]癸-3-烯 [1S,2R,6R,7R,8S,(+)]-1,3-Dimethyl-8-(1-Methylethyl)Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]Deca-3-Ene	99	—	0.93±0.07	—	—	—	—	—	0.79±0.22
26	α-蒎烯 α-copaene	99	—	0.14±0.03	—	—	—	—	—	2.34±0.63
27	(+)-7-表-倍半萜烯 (+)-7-epi-sesquithujene	93	—	—	0.36±0.08	—	—	0.23±0.02	0.54±0.05	—
28	蒎烯 β-copaene	95	—	0.37±0	—	—	—	—	—	—
29	α-香柑油烯 α-bergamotene	99	18.71±4.89	28.82±4.79	58.73±1.24	28.12±0.19	—	67.18±1.17	48.94±4.28	—
30	α-檀香烯 Santalene	99	—	—	0.13±0.03	—	—	0.09±0.01	—	—
31	β-榄香烯 β-elemene	91	—	1.87±0.11	—	—	—	—	—	—
32	γ-榄香烯	99	—	4.56	—	—	—	—	—	1.16

	γ-elemene			±0.37						±0.38
33	β-倍半水芹烯 β-sesquiphellandrene	95	—	—	0.49±0.07	—	—	—	0.23±0.06	—
34	1-(1,5-二甲基-4-己烯)-4-亚甲基双环[3.1.0]己烷 Sesquisabinene	96	—	—	—	—	—	0.5±0.05	—	—
35	(1S-外)-2-甲基-3-亚甲基-2-(4-甲基-3-戊烯基)双环[2.2.1]庚烷 3-methyl-2-methylidene-3-(4-methylpent-3-enyl)bicyclo[2.2.1]heptane	97	—	—	—	—	—	0.08±0.01	—	—
36	反式-β-金合欢烯 trans-β-Farnesene	95	—	—	—	—	—	—	2.03±0.04	—
37	Benzene,1-(1,5-dimethylhexyl)-4-methyl-	90	—	—	0.12±0.07	—	—	0.16±0.01	—	—
38	α-律草烯 α-caryophyllene	92	—	—	—	—	—	—	—	0.34±0.09
39	1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1-methyl-6-methylene-4-(1-methylethyl)naphthalene	98	—	0.87±0.31	—	—	—	—	—	—
40	(E)-β-金合欢烯 (E)-β-farnesene	96	—	—	—	0.69±0.1	—	—	—	—
41	β-香柑油烯 β-bergamotene	97	—	2.38±0.26	5.62±0.82	—	—	5.44±1.79	2.45±0.26	—
42	大根香叶烯 D Germacrene D	95	—	—	—	—	—	—	—	1.34±0.33
43	(+)-白菖油萜 (+)-calarene	97	—	6.58±1.1	—	—	—	—	—	—
44	alpha-姜烯 alpha-Zingiberene	94	—	—	0.35±0.12	—	—	0.31±0.02	—	—
45	β-红没药烯 β-bisabolene	98	—	—	12.99±1.06	—	—	2.06±0.11	11.4±1.4	—
46	α-法呢烯 α-farnesene	98	0.44±	—	0.67±	0.74±	—	0.68±	0.67±	0.48±

			0.07		0.05	0.08		0.05	0.09	0.02
47	(+)-瓦伦亚烯 (+)-valencene	93	—	0.43±0.1	—	—	—	—	—	—
48	(E)-γ-没药烯 (E)-γ-bisabolene	98	—	—	0.1±0.03	—	—	0.08±0.04	—	—
49	1-甲基-4-[(2E)-6-甲基-2,5-庚二烯-2-基]环己烯 1-Methyl-4-[(2E)-6-Methyl-2,5-Heptadien-2-Yl]Cyclohexene	95	—	—	—	—	—	1.88±0.83	—	—
50	δ-杜松烯 (+)-δ-cadinene	96	—	2.34±0.99	—	—	—	—	—	1.20±0.53
51	γ-杜松烯 (+)-γ-cadinene	98	—	1.05±0.94	—	—	—	—	—	—
52	α-雪松烯α-himachalene	94	—	1.05±0.07	—	—	—	—	—	—
53	α-姜黄烯 α-curcumins	99	0.61±0.12	—	0.58±0.02	—	—	0.76±0.04	1.97±0.77	—
54	α-芹子烯 α-selinene	98	—	1.53±0.12	—	—	—	—	—	—
55	α-衣兰油烯α-muurolene	98	—	0.88±0.02	—	—	—	—	—	0.31±0.07
56	黑蚁素 Dendrolasin	64	—	—	—	—	—	—	0.33±0.2	—
57	1-乙烯基-1-甲基-4-丙-2-亚基-2-丙-1-烯-2-基环己烷 1-Ethenyl-1-Methyl-4-Propan-2-Ylidene-2-Prop-1-En-2-Ylcyclohexane	97	—	0.35±0.04	—	—	—	—	—	—
58	(+/-)-trans-calamanene	95	—	—	—	—	—	—	—	0.73±0.24
59	(1E,5E)-1,5-二甲基-8-(丙-2-亚基)环癸-1,5-二烯 (1E,5E)-1,5-Dimethyl-8-(propan-2-ylidene)cyclodec	99	—	2.82±0.29	—	—	—	—	—	—

	a-1,5-diene									
60	α-二去氢菖蒲烯 α-calacorene	91	—	0.32±0.04	—	—	—	—	—	—
61	3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三烯-3-醇 3,7,11-Trimethyl-1,6,10-Dodecatrien-3-ol	96	—	—	0.14±0.06	—	—	—	—	—
62	反式-橙花叔醇 trans-Nerolidol	91	—	—	—	—	—	0.34±0.15	—	—
63	(3E,7E)-4,8,12-三甲基十三-1,3,7,11-四烯 (3E,7E)-4,8,12-trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraene	68	0.47±0.14	—	0.14±0.03	—	—	0.17±0.02	—	—
双萜类 Diterpenes										
64	贝壳杉-16-烯 Kaur-16-Ene	98	—	—	0.17±0.08	—	—	—	—	—
醛类 Aldehydes										
65	正己醛 Hexanal	90	—	—	—	—	0.32±0.07	—	—	—
酯类 Esters										
66	乙酸甲酯 Methyl acetate	83	24.69±4.15	7.02±0.66	8.89±1.64	4.26±0.49	14.07±1.48	8.02±0.87	17.05±1.62	5.02±0.01
67	乙酸乙酯 Ethyl acetate	92	1.94±0.05	—	—	—	—	—	—	—
68	丁酸甲酯 Methyl butyrate	91	0.9±0.18	—	—	—	—	—	—	—
69	乙酸丁酯 Butyl acetate	83	—	—	—	—	0.93±0.1	—	—	—
70	己酸甲酯 Methyl hexoate	96	1.56±0.47	—	—	—	—	—	—	—
71	丁酸丁酯 Butyl butyrate	80	—	—	—	—	—	—	—	0.28±0.01
72	乙酸己酯 Hexyl acetate	90	—	—	—	—	2.33±0.44	—	—	—
73	己-4-烯-1-醇乙酸酯	90	—	—	—	—	0.56	—	—	—

	4-Hexen-1-ol, acetate						±0.23			
74	癸酸乙酯 Ethyl caprate	99	5.56±1.01	4.25±0.53	2.08±0.32	26.14±0.76	10.51±0.42	3.53±0.43	1.88±0.14	7.36±0.82
75	水杨酸甲酯 Methyl salicylate	97	—	—	—	—	0.72±0.1	—	—	—
76	月桂酸甲酯 Methyl Laurate	97	—	—	—	—	—	0.13±0.09	—	—
77	苯甲酸苄酯 Benzyl benzoate	97	—	—	—	—	—	—	1.09±0.40	—
78	惕各酸苄酯 Benzyl tiglate	93	—	—	0.28±0.08	—	—	0.15±0.03	—	—
79	顺式-3-己烯醇苯甲酸酯 Cis-3-Hexenyl benzoate	83	—	—	0.33±0.05	—	—	—	—	—
醇类 Alcohols										
80	甲醇 Methanol	9	10.85±1.26	3.29±0.7	3.85±1.77	19.7±1.85	5.07±1.64	2.38±1.53	5.21±0.58	8.07±0.94
81	1-己醇 1-Hexanol	80	0.32±0.14	0.21±0.05	0.09±0.06	0.77±0.01	0.91±0.13	—	—	0.24±0.04
82	反-3-己烯-1-醇 trans-3-Hexen-1-ol	95	0.57±0.26	—	0.06±0.01	0.43±0.27	0.31±0.08	—	0.23±0.065	0.29±0.12
83	3-己烯-1-醇 3-Hexen-1-ol	97	—	1.64±0.01	—	—	—	0.13±0.02	—	—
84	苯甲醇 Benzyl alcohol	91	—	—	—	—	—	—	0.14±0.03	—
85	苯乙醇 Phenethyl alcohol	87	—	—	0.08	—	—	0.14±0.02	0.5±0.22	—
86	(2R,3R)-rel-1,4-二溴-2,3-丁二醇 (2R,3R)-rel-1,4-Dibromo-2,3-Butanediol	95	—	—	—	—	0.03±0.1	—	—	—
酮类 Ketones										
87		96	—	—	0.04	—	—	0.03	0.11	—

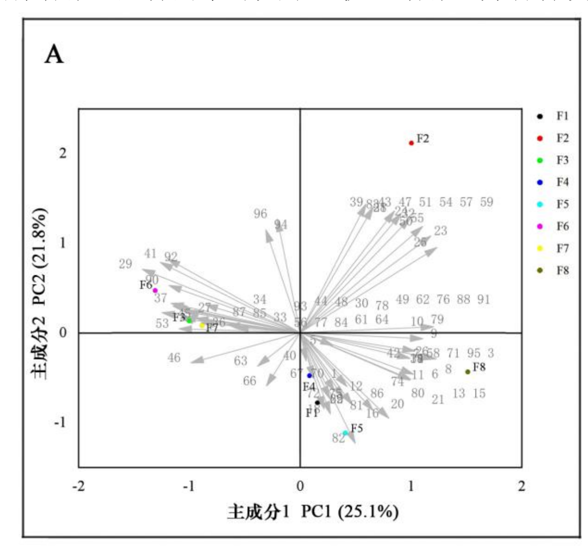
	甲基庚烯酮 Methyl heptenone				±0.02			±0.01	±0.02	
88	7,8-二氢紫罗兰酮 7,8-Dihydro-alpha-ionone	99	—	—	—	—	—	0.26±0.07	—	—
89	二氢-β-紫罗兰酮 Dihydro-β-ionone	99	—	—	—	—	—	0.2±0.05	—	—
90	香叶基丙酮 Geranyl acetone	93	—	0.09±0.03	0.14±0.05	—	—	0.72±0.1	0.36±0.13	—
醚类 Ethers										
91	苄甲醚 Benzyl methyl ether	96	—	—	—	—	—	0.69±0.19	—	—
92	4-甲基苯甲醚 4-Methylanisole	97	—	0.68±0.1	1.61±0.39	—	—	1.35±0.46	1.36±0.06	—
93	4-烯丙基苯甲醚 4-Allylanisole	94	—	—	—	—	—	0.18±0.06	0.27±0.04	—
酚类 Phenols										
94	丁香酚 Engenol	94	—	0.23±0.11	—	—	—	0.11±0.04	0.27±0.08	—
芳香族化合物 Aromatics										
95	邻位伞花烃 o-Cymene	97	—	—	—	—	—	—	—	0.37±0.02
96	3,4-二甲氧基甲苯 3,4-Dimethoxytoluene	93	—	0.52±0.12	—	—	—	0.57±0.1	—	—

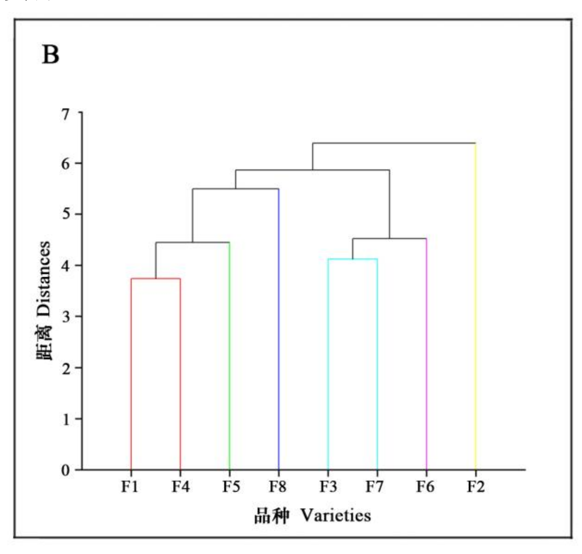
2. 3 不同蝴蝶兰品种花香主成分聚类分析

不同品种的 96 种物质的主成分分析表明，品种与挥发性成分具有关联，并能在一定程度上确定挥发物中的致香成分。桉叶油醇、月桂烯等物质对 PC1 有着正影响，α-香柑油烯、β-香柑油烯、香叶基丙酮、对甲苯甲醚等对 PC1 为负影响；蒎烯、榄香烯、(+)-白菖油萜、苯乙醇等物质对 PC2 为正影响，芳樟醇、香茅醇等对其为负影响。

据此，8 个品种根据主成分的不同被划分在 3 个象限中，F2 中挥发性成分种类和数量均最多，萜烯类物质主要是桉叶油醇、α-香柑油烯、芳樟醇、(+)-白菖油萜；F1、F4、F5 和 F8 分为一组，不含酮类、醚类、酚类物质，挥发性成分种类最少，萜烯类物质主要是芳樟醇；F3、F6 和 F7 分为一组，α-香柑油烯含量最高，还包含香叶基丙酮、对甲苯甲醚等其他挥发性成分种类（图 2：A）。以 8 个品种蝴蝶兰的 96 种挥发性成分为基础，用数字 0 和 1 表示某一挥发性物质成分的有无，含有此种挥发性成分的数据赋值为 1，没有或未检测即赋

值为 0（林榕燕等，2016），利用软件 OriginPro 2019b 聚类功能将 8 个蝴蝶兰品种分为 3 类，即I、II和III类（图 2：B）。遗传距离在 6.39 附近第一次分支，I类中仅包含 F2 一个品种；在遗传距离为 5.87 附近时第二次分支，II类由 F1、F4、F5 和 F8 组成；III类由 F3、F6 和 F7 组成。遗传距离越小，品种间的遗传关系越近。聚类分析与主成分分析一致将 8 个品种划分为同样的 3 大类，挥发性物质成分可能作为潜在特征标记物质区分不同品种群体，鉴别蝴蝶兰品种的亲缘关系，梳理蝴蝶兰芳香种质资源。





A. 主成分分析；**B.** 聚类分析。

A. Principal component analysis；**B.** Cluster analysis.

图 2 主成分分析和聚类分析

Fig. 2 Principal component analysis and cluster analysis

2.4 不同蝴蝶兰品种主要差异物质及其品质分析

对鉴定出的 96 种物质进行偏最小二乘（PLS-DA）分析，8 个蝴蝶兰品种可以依据绝对回归系数的加权值筛选出的主要差异物质分离开来。将筛选出的加权系数较大的前 15 个花香物质列为主要差异物质，对其气味类型及其品质进行确定。加权系数大于 20 的物质有 5 个，加权系数大于 10 的物质有 10 个。其中，α-香柑油烯的加权和值最高，为 68.725。主要差异物质按香气类型可分为木香型、花香型、发酵香型、薄荷香型、清香香型、果香型和草药香型 7 种，其中有 6 种物质呈现木香型类型，气味品质更具层次变化（表 3）。α-香柑油烯作为最主要差异物质，贡献率最高，在 F3、F6 和 F7 中的表达量较高；β-红没药烯、对甲苯甲醚、α-姜黄烯等其他 4 个差异物质表达量在 3 个品种中表达均较高，整体呈现木质型气味类型。F1、F4、F5、F8 和 F2 中的花香物质成分气味较为繁杂，有薄荷型、木香型、清香型和果香型之分，按差异物质芳樟醇贡献率能够将 5 个品种分为两类，F1、F4、F5 和 F8 中具有玫瑰花香释放较多，F2 中玫瑰花香的芳樟醇成分表达较少（图 3）。香气物质可以依据香气品质类型，按贡献率判断关系，区分香味特征各异的各个品系。

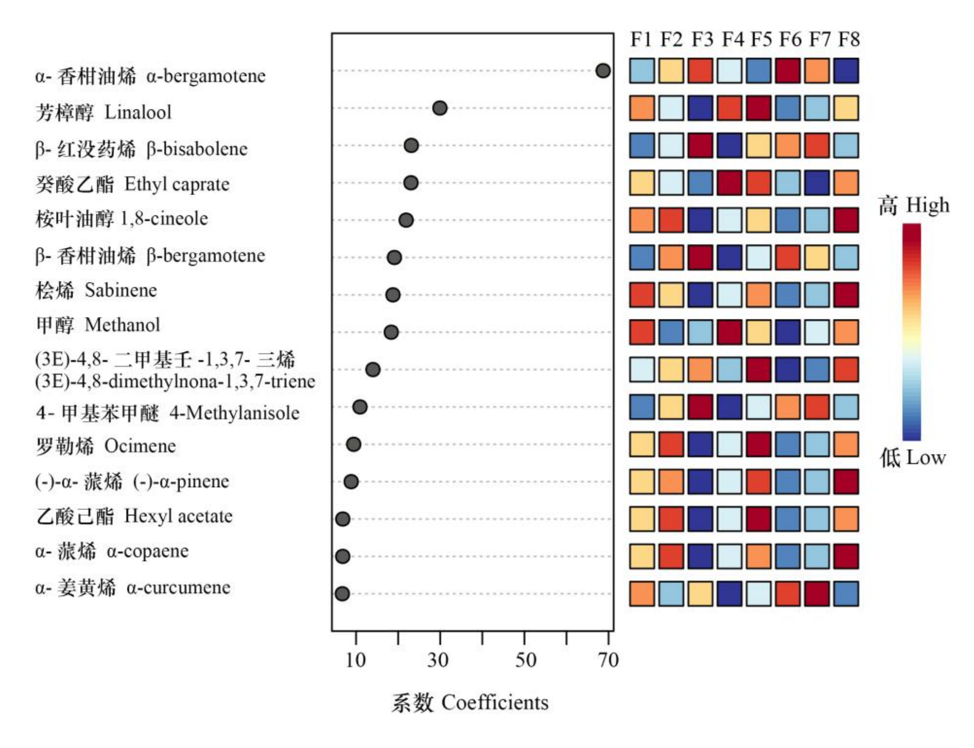


图 3 主要挥发性成分的 PLS-DA 系数

Fig. 3 PLS-DA coefficients of main volatile components

表 3 不同品种盛花期主要差异物质及其香气品质

Table 3 The main difference substances and aroma quality of different *Phalaenopsis* varieties in blooming period

化合物名称 Compound name	加权系数 Weighting coefficients	气味品质 Aroma quality	香气类型 Odor type
α-香柑油烯 α-bergamotene	68.725	木质暖茶味 Woody warm tea	木香型 Woody
芳樟醇 Linalool	29.924	玫瑰花香 Rose-like	花香型 Floral
β-红没药烯 β-bisabolene	23.131	香脂木香 Balsamic woody	木香型 Woody
癸酸乙酯 Ethyl caprate	23.051	酒味、果味 Alcoholic and fruity	发酵香型 Fermented
桉叶油醇 1,8-cineole	21.902	薄荷味 Minty-like	薄荷香型 Minty
β-香柑油烯 β-bergamotene	19.115		
桧烯 Sabinene	18.768	松树香气 Pine-like	木香型 Woody
甲醇 Methanol	18.359	酒精味 Ethyl alcohol-like	
(3E)-4,8- 二 甲 基 壬 -1,3,7- 三 烯 (3E)-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene	14.015		
对甲苯甲醚 4-Methylanisole	10.94	坚果味 Nutty-like	木香型 Woody
罗勒烯 Ocimene	9.4392	清香 Green	清香型 Green
(-)-α-蒎烯 (-)-α-pinene	8.8346	松树香气 Pine-like	木香型 Woody
乙酸己酯 Hexyl acetate	6.8442	果香 Fruity	果香型 Fruity
α-蒎烯 α-copaene	6.8336	辛辣蜂蜜 Spicy honey-like	木香型 Woody
α-姜黄烯 α-curcumene	6.7372	草药味 Herbal	草药香型 Herbal

3 讨论与结论

花香是植物的天然产物，即使检测出相同的香气成分，每一个品种仍可表现出独特的花香特征。与前人试验结果一致，8 个蝴蝶兰品种盛花期花朵 96 种挥发性物质中，萜烯类物质的数量及相对含量较多，是蝴蝶兰挥发性物质主要组分（Hsiao et al., 2008）。花香香味的形成依靠各种挥发物的相互作用，其香型主要由拥有较高气味值的挥发物决定。试验发现蝴蝶兰 8 个品种的挥发性成分、相对含量和气味品质差异较大，除已有报道的芳樟醇、沉香醇、香叶醇等挥发性成分外（肖文芳等，2021），本试验中还新检测出桉叶油醇和α-香柑油烯。芳樟醇存在于多种植物的挥发油中，在各种香型的香精配方中占重要的地位。同样，在所测定的 8 个蝴蝶兰品种中，有 4 个蝴蝶兰品种的花香香味是由带有玫瑰花香的芳樟醇决定的，包括 F1、F4、F5 和 F8。F3、F6 和 F7 中木质型芳香由α-香柑油烯决定。F2 为复合型花香，由桉叶油醇、α-香柑油烯、芳樟醇等物质共同提供。深度挖掘不同香型的香花品种，将花香成分进行合理的归类，形成物种特异性，为进一步有效开发利用花香物质、培育具有不同香味的蝴蝶兰新品种甚至是兰科蝴蝶兰属的新品种提供新的思路。

花香代谢产物作为生物体表型的重要性状之一，其形成具有多样性，对芳香植物的相关研究近年来已成为热门领域（孔滢等，2012）。花香成分繁杂多变，遗传机理复杂，植株个体受到亲本遗传的影响，选育的后代出现性状分离，可能是引起后代花香形成具有差异的主要原因之一。此外，香气变化还受到多种因素的影响，比如细胞结构、内源物质的量、物质挥发效率以及物质释放方式等。细胞结构及细胞内含物影响花香物质累积与释放，在释放到细胞外前，花香物质以各种形式存在于细胞内，内源物质是其挥发的基础（EL-Sharkawy et al., 2005）。不同类型的物质释放到细胞外的方式也有所不同，花香物质释放到细胞外的转运蛋白及相关酶发挥的作用机理还需要我们进一步探究。原生蝴蝶兰种质丰富，接近一半的原生种都具有香气特征，传统杂交技术制约香花育种进程。随着花香分子生物学的研究进展，分子育种已成为改良植物花香的重要途径（Jadaun et al., 2017）。通过对植物花香化合物的代谢产物、主要代谢途径及合成关键酶和基因的研究，帮助我们更直观有效地了解生物学过程及其形成机理，导入外源基因或阻断其相关代谢途径来进行花香遗传改良，从而打破芳香植物育种的种种限制，为解释蝴蝶兰不同品种花香的多样性，理解蝴蝶兰花香物质合成及定向育种目标的高效实现奠定基础。

参考文献：

ASHWORTH V, CLEGG MT, KOBAYASHI MC, 2003. Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): genealogical relationships among cultivated avocado genotypes[J]. J Hered, 5: 407.

AWANO K, HONDA T, OGAWA T, et al., 2015. Volatile components of *Phalaenopsis schilleriana* Rehb. f[J]. Flavour Frag J, 12(5): 341-344.

CHEN JY, ZHANG QX, LIU WX, et al., 1995. Studies on breeding for cold hardiness and regional tests of hardy Mei cultivars[J]. J Beijing For Univ, 17(S1): 42-45.[陈俊愉，张启翔，刘晚霞，等，1995. 梅花抗寒育种及区域试验的研究[J]. 北京林业大学学报，17(S1)：42-45.]

DOBSON HEM, 1994. Floral volatiles in insects biology[J]. Insect-plant Interaction, 5: 47-81.

EL-SHARKAWY I, MANRIQUEZ D, FLORES FB, et al., 2005. Functional characterization of a melon alcohol acyl-transferase gene family involved in the biosynthesis of ester volatiles. Identification of the crucial role of a threonine residue for enzyme activity[J]. Plant Mol Biol, 59: 345-362.

FAN ZQ, LI JY, LI XL, et al, 2014. Analysis on the aroma components of different floral organs of aromatic *Camellia* ‘Kramer’s supreme’ based on HS-SPME/GC-MS[J]. Plant Res, 34(1): 136-142. [范正琪，李纪元，李辛雷，等，2014. 基于 HS-SPME/GC-MS 分析山茶品种‘克瑞墨大牡丹’花器官香气成分[J]. 植物研究，34(1)：136-142.]

HSIAO YY, TSAI WC, JENG MF, et al., 2008. Novel homodimeric geranyl diphosphate synthase from the orchid *Phalaenopsis bellina* lacking a DD(X)2-4D motif[J]. Plant J, 55: 719-733.

HSIAO YY, TSAI WC, KUOH CS, et al., 2006. Comparison of transcripts in *Phalaenopsis bellina* and *Phalaenopsis equestris* (Orchidaceae) flowers to deduce monoterpene biosynthesis pathway[J]. J Plant biol, 6(1): 1-14.

JADUAN JS, SANGWAN NS, NARNOLIYA LK, et al, 2017. Over-expression of DXS gene enhances terpenoidal secondary metabolite accumulation in rose-scented *Geranium* and *Withania somnifera*: Active involve- ment of plastid isoprenogenic pathway in their biosynthesis[J]. Physiol Plant, 159(4): 381-400.

JETTE T, KNUDS E, ROGER E, et al., 2006. Diversity and distribution of floral scent[J]. Bot Rev, 72(1): 1-120.

KONG Y, SUN M, PAN HT, 2012. Advances in metabolism and regulation of floral scent[J]. J Beijing For Univ, 34(2): 146-154. [孔滢，孙明，潘会堂，2012. 花香代谢与调控研究进展[J]. 北京林业大学学报，34(2)：146-154.]

LI JH, YAN HJ, YANG JH, et al., 2018. Analysis of volatile components from *Rosa odorata* complex by SPME-GC /MS [J]. SW Chin J Agric Sci, 31(3): 587-591.[李晋华，晏慧君，杨锦红，等，2018. 香水月季复合群（*Rosa odorata* Complex）花香成分分析[J]. 西南农业学报，31(3)：587-591.]

LIN RY, ZHONG HQ, HUANG ML, et al., 2016. Aromatics in flowers of *Freesia hybrida*[J]. Fujian J Agric Sci, 31(11): 1216-1220. [林榕燕，钟淮钦，黄敏玲，等，2016. 小苍兰品种花香成分分析[J]. 福建农业学报，31(11)：1216-1220.]

NOGUEIRA P, BITTRICH V, SHEPHERD GJ, et al., 2001. The ecological and taxonomic importance of flower volatiles of *Clusia* species(Guttiferae)[J]. Phytochemistry, 56(5): 443-452.

PENG HM, 2009. Study on the volatile, characteristic floral fragrance components of Chinese *Cymbidium*[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry. [彭红明，2009. 中国兰花挥发及特征花香成分研究[D]. 北京：中国林业科学研究院.]

SHULAEV V, SILVERMAN P, RASKIN I, 1997. Airborne signaling by methyl salicylate in plant pathogen resistance[J]. Nature, 385: 718-721.

XIAO WF, LI Z, CHEN HM, et al., 2020. Determination of volatile components in flowers of *Phalaenopsis violacea*[J]. Chin J Trop Agric, 40(4): 82-87. [肖文芳，李佐，陈和明，等，2020. 大叶蝴蝶兰花朵挥发性成分测定[J]. 热带农业科学，40(4)：82-87.]

XIAO WF, LI Z, CHEN HM, et al., 2021. Analysis of volatile components in flowers of four different *Phalaenopsis germplasm* resources by headspace solid phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. J Chin Agric Univ, 26(3): 38-52. [肖文芳，李佐，陈和明，等，2021. 基于 HS-SPME-GC-MS 的 4 种不同蝴蝶兰种质资源花朵挥发性成分比较分析[J]. 中国农业大学学报，26(3)：38-52.]

YANG HJ, 2011. Analysis on the volatile components of Chinese orchids[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University. [杨慧君，2011. 中国兰花挥发性成分分析[D]. 呼和浩特：内蒙古农业大学.]

YANG SZ, FAN YP, 2008. Analysis on the volatile components of two cultivars of

Phalaenopsis[J]. J S Chin Agric Univ，29(1)：114-116. [杨淑珍，范燕萍，2008. 蝴蝶兰 2 个品种挥发性成分差异性分析[J]. 华南农业大学学报，29(1)：114-116.]

ZHAO L, 2019. Genetic diversity analysis and hybrid breeding of *Prunus mume* based on SSR markers[D]. Beijing: Beijing Forestry University.[赵靓，2019. 基于 SSR 标记的梅花遗传多样性分析与杂交育种[D]. 北京：北京林业大学.]